

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A61K 31/015, 31/12, 31/07	A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 96/23489 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 8. August 1996 (08.08.96)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP96/00381		(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
(22) Internationales Anmeldedatum: 2. Februar 1996 (02.02.96)		
(30) Prioritätsdaten: 195 03 604.2 3. Februar 1995 (03.02.95) DE 195 39 743.6 25. Oktober 1995 (25.10.95) DE		Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>
(71) Anmelder (<i>für alle Bestimmungsstaaten ausser US</i>): BASF AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen (DE).		
(72) Erfinder; und		
(75) Erfinder/Anmelder (<i>nur für US</i>): SCHMUTZLER, Wolfgang [DE/DE]; Reimser Strasse 16, D-52074 Aachen (DE). KOLTER, Karl [DE/DE]; Sudentenstrasse 1, D-67117 Limburgerhof (DE).		
(74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGESELLSCHAFT; D-67056 Ludwigshafen (DE).		

(54) Title: USE OF CAROTINOIDS FOR PREPARING MEDICAMENTS FOR TREATING DERMATOSES

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON CAROTINOÏDEN ZUR HERSTELLUNG VON ARZNEIMITTELN ZUR BEHANDLUNG VON DERMATOSEN

(57) Abstract

Carotinoids are used for preparing medicaments for treating inflammatory diseases that are not caused by exposure to light or by micro-organism infection.

(57) Zusammenfassung

Verwendung von Carotinoiden zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von entzündlichen Erkrankungen, die nicht durch Lichteinwirkung oder eine Infektion mit Mikroorganismen hervorgerufen werden.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger
AU	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL	Polen
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal
BJ	Benin	JP	Japan	RO	Rumänien
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CG	Kongo	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CH	Schweiz	LI	Liechtenstein	SK	Slowakei
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
CN	China	LK	Litauen	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estland	MG	Madagaskar	UG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MR	Mauritanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi		

Verwendung von Carotinoiden zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Dermatosen

5 Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Carotinoiden zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von entzündlichen Erkrankungen, die nicht durch eine Infektion mit Mikroorganismen und nicht durch Lichteinwirkung hervorgerufen werden,
10 insbesondere abakterielle, nichtlichtinduzierte Dermatosen.

Entzündliche Erkrankungen im Sinne dieser Erfindung können sowohl allergischer als auch nicht-allergischer Natur sein, wobei die
15 entzündliche Reaktion der betroffenen Gewebe nicht durch eine Infektion mit Mikroorganismen hervorgerufen und nicht durch Lichteinwirkung induziert wird.

Entsprechende Erkrankungen sind beispielsweise:

- 20 - Pollinose (saisonale Rhinitis)
- Perenniale Rhinitis
- Polyposis nasi
- entzündliche Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts wie
25 beispielsweise Enterocolitis regionalis (Morbus Crohn),
Colitis ulcerosa, Colon irritabile
- Dermatosen beispielsweise Kontakturtikaria, Urtikaria pigmentosa
- Vasculitis allergica
30 - Insektenallergie
- Asthma bronchiale
- allergische Reaktionen des äußeren Auges
- allergische und pseudoallergische Arzneimittelreaktionen
- systemische Mastozytose
35 - Autoimmunerkrankungen beispielsweise systemischer Lupus erythematoses, Sjögren's Syndrom, Thyreoditis, Insulitis, Glomerulonephritis

Nichtlichtinduzierte, abakterielle entzündliche Dermatosen sind
40 vor allem cutan-vaskuläre Formen der Allergie wie beispielsweise Neurodermitis oder Urticaria oder auch Hyperkeratosen wie beispielsweise die Psoriasis.

Bei der Pathogenese verschiedener allergischer und nichtallergischer Entzündungen spielen höchstwahrscheinlich reaktive Sauerstoff-Spezies oder Singulett-Sauerstoff eine wichtige Rolle. Man vermutet auch eine Beteiligung solcher Spezies an der Degranula-

tion mit Freisetzung von Mediatoren aus Mastzellen. Sicher ist, daß eine Degranulation der Mastzellen und der basophilen Granulozyten im Blut den ersten Schritt bei der Einleitung einer allergischen Reaktion darstellt.

5

Einer der wichtigsten Mediatoren allergischer Reaktionen ist das Histamin und die Hemmung seiner Freisetzung oder Wirkung stellt ein wichtiges Prinzip bei der Therapie von allergisch-entzündlichen Erkrankungen dar.

10

Nach neueren Unternehmungen wird Histamin nicht nur in Mastzellen, sondern auch in menschlichen Monozyten in beträchtlichen Maßen freigesetzt (G. Zwadlo-Klarwasser et al., Agent Actions 41, Special Conf. Issue: C99-C100, (1994)).

15

Bei der Therapie allergischer Dermatosen Erkrankungen, beispielsweise sind bisher vor allem Glucokortikoide und H₁-Antagonisten eingesetzt worden, wobei letztere sich nur zur systemischen Anwendung eignen.

20

Bei der Behandlung von Asthma bronchiale werden neben Bronchiospasmolytika, Cromone oder Steroid-Therapeutika eingesetzt. Bei Autoimmunerkrankungen kommen meist Steroide oder auch Immunsupresiva zum Einsatz.

25

Zur Behandlung einiger entzündlicher Dermatosen ist die Anwendung von Retinol (Vitamin A) und Retinsäurederivaten bekannt. So wurde Retinol zur Therapie von juveniler Akne und von Psoriasis eingesetzt, wobei sich diese Therapie wegen der Überdosierungserscheinungen als wenig geeignet erwies.

Auch die Retinoide Isotretinoin und Etretinat eignen sich grundsätzlich zur Therapie von Akne und entzündlichen Hyperkeratosen wie Psoriasis, führen aber wie Retinol leicht zu Überdosierungs-symptomen. Zudem ist Etretinat wegen seiner stark teratogenen Wirkung als sehr problematisch einzustufen.

(Vgl. "W. Forth (Herausg.), Pharmakologie und Toxikologie, S. 404-5, 4. Auflage, BI Wissenschaftsverlag, Mannheim).

40

Es wurde auch gefunden, daß die Retinoide Isotretinoin und Etretinat in menschlichen Mastzellen die Histaminfreisetzung inhibieren können (D. Eichelberg und W. Schmutzler, Arch. Dermatol. Res., 280, 155-157 (1988)). Wegen der bereits erwähnten Nebenwirkungen empfehlen sich diese Wirkstoffe jedoch nicht unbedingt zur therapeutischen Anwendung.

Weiterhin ist bekannt, daß Carotinoide wie β -Carotin (Provitamin A) oder Canthaxanthin zur Therapie lichtinduzierter Dermatosen wie erythropoetischer Protoporphyrnie und Sonnenlichturticaria sowie von Pigmentstörungen (Vitiligo) angewandt wurden (A. Hol-

5 lander, "Neues aus der amerikanischen Dermatologie", Der Hautarzt, S. 379-383 (1971)). Die therapeutische Wirkung von Carotinoiden bei Sonnenlichturticaria gilt aber als unsicher (F. Lawlor et al., Z. Hautkrankh., 65, 17-27 (1989); A. Taaffe, Postgrad. Med. J., 53, 732-736 (1977).

10

Zur Behandlung der allergisch-entzündlichen Neurodermitis gibt es bisher keine gesicherte Therapie.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es, die Behandlungsmöglichkeiten bestimmter entzündlicher Erkrankungen, insbesondere Dermatosen, durch die Bereitstellung von für diesen Zweck neuen Mitteln zu erweitern.

Es wurde nun gefunden, daß Carotinoide die Histaminfreisetzung 20 inhibieren und sich für die eingangs definierte Verwendung eignen.

Erfundungsgemäß verwendete Carotinoide sind neben dem bevorzugten β -Carotin auch Canthaxanthin, Zeaxanthin, Citranaxanthin, 25 Astaxanthin oder Lykopin. Die Carotinoide werden bevorzugt in Form von Solubilisaten eingesetzt.

Die Carotinoide können sowohl in topischen als auch in systemisch wirkenden Zubereitungen eingesetzt werden.

30

Zur topischen Anwendung eignen sich grundsätzlich alle für diesen Zweck üblichen Darreichungsformen wie Salben, Cremes, Gele, Lösungen, Emulsionen oder Lösungen.

35 Zur systemischen Behandlung können die Carotinoide sowohl injiziert als auch oral verabreicht werden. Als orale Darreichungsformen eignen sich alle dafür üblichen Formen wie z.B. Kapseln, Dragees, Tabletten oder flüssige Zubereitungen.

40 Die Herstellung solcher Darreichungsformen und die dafür üblichen pharmazeutischen Hilfsstoffe sind dem Fachmann bekannt.

Darreichungsformen für die topische Anwendung können 0,05 bis 15, vorzugsweise 0,2 bis 4 Gew.-% an Carotinoiden enthalten. Die Dosierung kann je nach Schwere der zu behandelnden Erkrankung in

4

weiten Grenzen variiert werden, da wegen der guten Verträglichkeiten der Carotinoide Nebenwirkungen quasi ausgeschlossen sind.

Zur systemischen Therapie empfehlen sich Tagesdosen von 5 bis 5 750, vorzugsweise 10 bis 300 mg.

Aufgrund der guten Verträglichkeit und des geringen toxischen Potentials der Carotinoide eignen sich diese hervorragend zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von nichtlichtinduzierten, entzündlichen akuten oder chronisch rezidivierenden Erkrankungen, die nicht durch eine Infektion mit Mikroorganismen hervorgerufen werden.

Erfundungsgemäß eignen sich Carotinoide zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von allergisch-entzündlichen Erkrankungen der Nasenschleimhaut und der Darmschleimhaut. Weiterhin eignen sie sich zur Behandlung von systemischen allergisch-entzündlichen Erkrankungen. Bevorzugt ist die Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von nicht durch Lichteinwirkung induzierten 20 Hauterkrankungen.

Wegen der inhibierenden Wirkung auf die Histaminfreisetzung eignen sie sich besonders bevorzugt zur Therapie von allergisch-entzündlichen Dermatosen wie der Neurodermitis.

25 In den nachstehenden Versuchen wird die histamininhibierende Wirkung beschrieben. Als Carotinoid wurde dabei β -Carotin in Form eines Solubilisats, bestehend aus 4 Gew.-% β -Carotin, 22 Gew.-% ethoxilaterter 12-Hydroxystearinsäure als Solubilisator und Wasser 30 ad 100 Gew.-%, eingesetzt.

Die Versuche wurden an adenoidalen Mastzellen, Hautmastzellen und peripheren Monozyten durchgeführt. Die Stimulierung erfolgte mit Concanavalin A oder dem Entzündungsmediator C5a.

35 Bestimmung der Histaminfreisetzung aus adenoidalen Mastzellen, peripheren Blutmonozyten und Hautmastzellen.

40

45

Testverfahren

1. Mastzellen aus adenoiden Vegetationen

5 Als Medium wird durchgehend kompletter Hanks-Puffer vom pH 7,4 folgender Zusammensetzung verwendet:

1. 100 ml 8,5 g % NaCl
2. 10 ml 4,0 g % KCl
- 10 3. 10 ml 0,6 g % KH₂PO₄
4. 10 ml 0,6 g % Na₂HPO₄·2H₂O
5. 10 ml 3,5 g % NaHCO₃ (stets frisch bereitet)
6. 10 ml 1,4 g % CaCl₂·2H₂O
7. 10 ml 1,0 g % MgCl₂·6H₂O
- 15 8. 10 ml 1,0 g % MgSO₄·7H₂O
9. 1,0 g D-Glucose
10. Doppelt-destilliertes Wasser auf 1000 ml auffüllen

20 Zur Histaminfreisetzung wurden die Zellen mit Concanavalin A (Sigma, München) stimuliert.

Isolierung der Mastzellen

Adenoide Vegetationen (Rachenmandel) werden unmittelbar nach 25 der Operation in Hanks-Puffer eingelegt und innerhalb von 90 bis 120 Minuten durch den kompletten Versuch geführt. Hierzu wird das Gewebe zunächst mit einem "McIlwain and Buddle tissue chopper" (Literatur: Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Band 18/1, 342, 1966) zerkleinert. Ein Gewichtsteil 30 Adenoid wird im 5-fachen Volumen Hanks-Puffer aufgenommen und ins Eisbad gestellt. Die Suspension wird nunmehr fünfmal mit einer Plastikspritze (ohne Kanüle) aufgesogen und wieder ausgedrückt. Nach 10-minütiger Ruhe im Eisbad wird der gleiche Vorgang nochmals wiederholt. Die Zellsuspension wird durch 35 drei Lagen Mull filtriert, anschließend 5 Minuten mit 125 x g zentrifugiert. Der Überstand wird abgesaugt, das Sediment in 1 ml Hanks-Puffer resuspendiert und mit 10 ml Hanks-Puffer aufgefüllt. Die Zellsuspension wird durch ein Vyon-Filter mit 100 µ-Porengröße (W. Köpp Zellkautschuk, Aachen) filtriert, wieder zentrifugiert, resuspendiert und nochmals durch Vyon- 40 Filter filtriert. Danach wird wieder zentrifugiert und das Sediment in 1 ml Hanks-Puffer aufgenommen. In dieser Suspension werden die Zellen nach Anfärbung mit Alcianblau-Lösung (1 g Alcianblau, 45 ml absoluter Alkohol, 45 ml 1 % Natriumsulfathydrit, 10 ml Eisessig) gezählt.

Zur Testung wurden 2 bis 3x 10⁵ Mastzellen mit Hanks-Puffer und den verschiedenen Konzentrationen des Beta-Carotins im Wasserbad bei 37°C equilibriert. Nach 5 Minuten wurden 50 mg Concanavalin A in einem Volumen von 50 µl zugesetzt, so daß das Endvolumen des Ansatzes 500 µl betrug. Nach 10 Minuten weiterer Inkubation bei 37°C wurde bei 4°C zentrifugiert und das Histamin in Überstand und Sediment getrennt bestimmt unter Verwendung des Radio-Immuno-Assays (Dianova-Immunotech Vertriebsgesellschaft, Hamburg).

10

Die Ergebnisse sind in Tabelle I aufgeführt.

Tabelle I

15

Con A-stimulierte Histaminfreisetzung in Adenoidzellen

20

Konzentration [mol/l] β-Carotin bzw. Placebo	Histaminfreisetzung [% Gesamthistamin] gemittelt (n=7)
β-Carotin	
0 (Basiswert Puffer)	21,7
10 ⁻⁶	16,5
10 ⁻⁵	12,5
25 10 ⁻⁴	7,1
10 ⁻³	2,1
Placebo	
30 0 (Basiswert Puffer)	14,6
10 ⁻⁶	12,9
10 ⁻⁵	15,2
10 ⁻³	4,7

35

40

45

2. Monozyten

Aus Leukozytenkonzentraten (buffy coats) werden durch Gradientenzentrifugation die Monozyten mit einer Reinheit von ca. 85 % isoliert. Hierzu werden die buffy coats auf 2 Röhrchen verteilt und mit Spinner-Medium (Gibco, Paisley, Schottland) auf ein Gesamtvolumen von 30 ml gebracht. Diese Suspension wird vorsichtig über 20 ml Ficoll (Pharmacia, Freiburg i. Brsg.) geschichtet und 40 Minuten mit 532 x g bei 20°C zentrifugiert. Die Bande über dem Ficoll wird abgenommen (der Rest verworfen) und auf 50 ml mit Spinner-Medium aufgefüllt. Nach 10 Minuten Zentrifugation mit 299 x g und 4°C wird das Sediment in 10 ml Spinner-Medium resuspendiert und nochmals zentrifugiert. Das Sediment wird in 3 ml resuspendiert und auf einen vorbereiteten 55%igen Percoll-Gradienten gegeben (300 bis 600 Millionen mononukleäre Zellen/Röhrchen). Nach Zentrifugation mit 532 x g für 40 Minuten und 20°C finden sich in der oberen Bande die Monozyten und in der unteren Bande die Lymphozyten wieder. Die obere Bande wird abgenommen und dreimal in Spinner gewaschen (Sediment in Spinner resuspendieren), auf 50 ml auffüllen und 10 Minuten bei 299 x g zentrifugieren. Nach dem zweiten Waschen wird durch eine Vitalitätszählung mit Trypanblau die Anzahl der lebenden Monozyten festgesetzt und nach dem letzten Waschen auf eine Zellzahl von 3 Millionen Zellen pro 200 µl Iscoves-Medium eingestellt.

Anschließend wird das Sediment so resuspendiert, daß 200 µl ca. 3×10^6 lebende Zellen enthalten.
Dem Ansatz werden noch 200 µl Iscoves-Medium (Gibco, Paisley, Schottland) zugesetzt, 50 µl einer Verdünnung von Beta-Carotin oder Placebolösung in Iscoves-Medium um die gewünschte Endkonzentration zu erhalten. Nach 60 Minuten Equilibrierung werden entweder 50 µl Puffer oder 50 µl C5a-Lösung (Sigma, München) zur Herstellung einer C5a-Endkonzentration von 10^{-8} M für ein Endvolumen von 500 µl zugesetzt.

Nach 60 Minuten Inkubation wird zentrifugiert und der Histamingehalt mit dem Radio-Immuno-Assay (Dianova-Immunotech, Hamburg) in Überstand und Sediment gesondert bestimmt.

Die Ergebnisse sind in Tabelle II aufgeführt.

Tabelle II

Spontane und C5a-induzierte Histaminfreisetzung (in % des Gesamthistamins) aus peripheren Blutmonozyten des Menschen in An- und Abwesenheit von Beta-Carotin (n = 4)

	Konz. [mol/l]	Spontan Histaminfreisetzung [%]	
		β-Carotin	Placebo
10	0 (Basiswert)	4.1	4.1
	10 ⁻⁶	1.9	1.6
	10 ⁻⁵	0.7	1.8
	10 ⁻⁴	1.7	3.2
	10 ⁻³	5.7	21.3

	Konz. [mol/l]	C5a	
		β-Carotin	Placebo
20	0 (Basiswert)	2.4	2.4
	10 ⁻⁶	2.9	3.2
	10 ⁻³	9.3	26.9

3. Enzymatische Isolierung von humanen Hautmastzellen

DMEM-Puffer: Dulbecco's Minimum Essential Medium

Die Hautmastzellen werden aus Vorhautgewebe isoliert, welches unmittelbar nach der Operation in Puffer gegeben und innerhalb von 24 h weiterverarbeitet wird. Das Gewebe wird manuell zerkleinert und zweimal gewaschen, indem das Gewebe mit 10 ml DMEM-Puffer/1 g Gewebe suspendiert, 5 Minuten bei 4°C und 1000 upm zentrifugiert und vom Puffer abgetrennt wird. Anschließend erfolgt eine Behandlung mit Collagenase I (Washington/Cell Systems, Remagen; 142 U/mg) und Hyaluronidase Typ I-S (Sigma; 440 U/mg), wobei pro Gramm Gewebe 10 ml DMEM-Puffer mit 1,5 mg/ml Collagenase und 0,5 mg/ml Hyaluronidase eingesetzt werden. Der Ansatz wird 60 Minuten bei 37°C im Schüttelbad inkubiert. Nach der Inkubation wird durch mechanische Dispersion mit Hilfe einer Spritze eine Suspension hergestellt, die durch 3-lagigen Mull filtriert und anschließend 5 Minuten bei 4°C und 1000 upm zentrifugiert wird. Der Überstand wird dekantiert, das Zellpellet in 1 ml DMEM-Puffer suspendiert und mit Puffer auf 10 ml aufgefüllt und wiederum unter den oben genannten Bedin-

gungen zentrifugiert. Dieser Vorgang wird noch zweimal wiederholt und das Zellpellet in 1 ml DMEM-Puffer aufgenommen.

5 Anschließend erfolgt eine Zellzählung, wobei die Zellen nach Kimura mit Toluidinblau angefärbt werden (450 µl Kimura-Lösung pro 50 µl Zellsuspension). Die Auszählung erfolgt in einer Neubauerkammer unter Auszählung aller 9 großen Quadrate.

10 Zur Testung wurden die Zellpellets mit jeweils 2 ml eines CaCl₂-enthaltenden DMEM-Puffers (2,8 mmolar an CaCl₂) und den verschiedenen Konzentrationen des Beta-Carotins im Wasserbad bei 37°C equilibriert. Nach 5 Minuten wurden 50 mg Substanz P (Neuropeptid; Firma Sigma) in einem Volumen von 50 µl zugesetzt, sodaß das Endvolumen 500 µl betrug. Nach 10 Minuten weiterer Inkubation bei 37°C wurde bei 4°C zentrifugiert und das Histamin in Überstand und Sediment getrennt bestimmt unter Verwendung des Radio-Immuno-Assays (Dianova-Immumotech Vertriebsgesellschaft, Hamburg).

Die Ergebnisse sind in Tabelle III aufgeführt.

Tabelle III

25 Substanz P-stimulierte Histaminfreisetzung in Hautmastzellen

	Konzentration [mol/l]	Histaminfreisetzung +) [% Gesamthistamin]
30	β-Carotin	
	0	9,1
	10 ⁻⁵	8,2
	10 ⁻⁴	4,5
	10 ⁻³	5,4
35	Konzentration [mol/l]	Histaminfreisetzung +) [% Gesamthistamin]
	Placebo	
	0	5,2
	10 ⁻⁵	6,2
	10 ⁻³	6,2

+)
*) gemittelt über n=11 Versuche

10

Mit steigender β -Carotin-Konzentration tritt eine Hemmung der Histaminausschüttung ein. Dies ist bei den Leerversuchen (Placebo) nicht zu beobachten.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

Patentansprüche

1. Verwendung von Carotinoiden zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von entzündlichen Erkrankungen, die nicht durch eine Infektion mit Mikroorganismen und nicht durch Lichteinwirkung hervorgerufen werden.
2. Verwendung von Carotinoiden zur Herstellung eines Arzneimittels zur topischen oder systemischen Behandlung von nicht-lichtinduzierten, bakteriellen entzündlichen Dermatosen.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, betreffend die Behandlung von Neurodermitis.
4. Verwendung nach Anspruch 2, betreffend die Behandlung von Psoriasis.
5. Verwendung nach Anspruch 2, betreffend die Behandlung von nichtlichtinduzierter Urticaria.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei als Carotinoid β -Carotin eingesetzt wird.
- 25 7. Verwendung nach Anspruch 6, wobei das Carotinoid als wässriges Solubilisat eingesetzt wird.

30

35

40

45



PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A61K 31/015, 31/12, 31/07		A3	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 96/23489
			(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 8. August 1996 (08.08.96)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP96/00381		(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
(22) Internationales Anmeldedatum: 2. Februar 1996 (02.02.96)			
(30) Prioritätsdaten: 195 03 604.2 3. Februar 1995 (03.02.95) DE 195 39 743.6 25. Oktober 1995 (25.10.95) DE		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>	
(71) Anmelder (<i>für alle Bestimmungsstaaten ausser US</i>): BASF AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen (DE).		(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 3. Oktober 1996 (03.10.96)	
(72) Erfinder; und			
(75) Erfinder/Anmelder (<i>nur für US</i>): SCHMUTZLER, Wolfgang [DE/DE]; Reimser Strasse 16, D-52074 Aachen (DE). KOLTER, Karl [DE/DE]; Sudentenstrasse 1, D-67117 Limburgerhof (DE).			
(74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGESELLSCHAFT; D-67056 Ludwigshafen (DE).			

(54) Title: USE OF CAROTINOID FOR PREPARING MEDICAMENTS FOR TREATING DERMATOSES**(54) Bezeichnung:** VERWENDUNG VON CAROTINOÏDEN ZUR HERSTELLUNG VON ARZNEIMITTELN ZUR BEHANDLUNG VON DERMATOSEN**(57) Abstract**

Carotinoids are used for preparing medicaments for treating inflammatory diseases that are not caused by exposure to light or by micro-organism infection.

(57) Zusammenfassung

Verwendung von Carotinoiden zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von entzündlichen Erkrankungen, die nicht durch Lichteinwirkung oder eine Infektion mit Mikroorganismen hervorgerufen werden.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger
AU	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL	Polen
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal
BJ	Benin	JP	Japan	RO	Rumänien
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CG	Kongo	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CH	Schweiz	LI	Liechtenstein	SK	Slowakei
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
CN	China	LK	Litauen	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estonia	MG	Madagaskar	UG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern'l Application No

PCT/EP 96/00381

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 6 A61K31/015 A61K31/12 A61K31/07

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	<p>INFLAMMATION RESEARCH, 45 (SUPPL. 1). 1996. S5-S6., XP000577938</p> <p>BOLSMANN K ET AL: "Histamine release from mast cells and monocytes: The effects of azelastine, reproterol and vitamin A-analogues" see the whole document</p> <p>---</p>	1-7
X	<p>AUST N Z J OPHTHALMOL, FEB 1995, 23 (1) P3-7, AUSTRALIA, XP000577875</p> <p>FLORENCE TM: "The role of free radicals in disease." see the whole document in particular abstract and table 1, page 4</p> <p>---</p> <p>-/-</p>	1,6,7

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- *&* document member of the same patent family

1

Date of the actual completion of the international search

7 August 1996

Date of mailing of the international search report

22.08.96

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax (+ 31-70) 340-3016

Authorized officer

Mair, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 96/00381

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP,A,0 542 632 (ARKOPHARMA SOCIETE ANONYME LAB) 19 May 1993 see the whole document ---	1,6,7
X	NOUV. PRESSE MED., 1981, 10/23 (1938), FRANCE, XP000578401 FRANCESCHINI PH. ET AL: "Treatment of lupus erythematosus and photosensitive dermatoses with carotenoids" see the whole document ---	1,6,7
X	ANN. DERMATOL. VENEREOL., 1991, 118/11 (824-825), FRANCE, XP000578412 OBERLIN P. ET AL: "Amicrobial pustulosis and systemic lupus erythematosus" see page 824, left-hand column, line 1-6 ---	1,6,7
A	Z. HAUTKR., 1990, 65/1 (17-27), GERMANY, FEDERAL REPUBLIC OF, XP000577984 LAWLOR F. ET AL: "Exploration of new therapeutic strategies in urticaria as a result of clinically orientated research" see page 25, right-hand column, line 53 - page 26, left-hand column, line 29 ---	1-7
A	GASTROENTEROLOGY, 106 (4 SUPPL.). 1994. A768., XP000577983 SCHEURLEN C ET AL: "Endogenous antioxidant status in inactive Crohn's disease complicated by intestinal strictures and fistulae" see the whole document ---	1-7
A	9TH CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY OF PARENTERAL AND ENTERAL NUTRITION, BARCELONA, SPAIN, SEPTEMBER 13-16, 1987. CLIN NUTR (EDINB), 6 (SPEC. SUPPL.). 1987. 70., XP000577902 GONZALEZ-HUIX F ET AL: "VITAMIN STATUS IN PATIENTS WITH CROHN'S DISEASE CD" see the whole document ---	1-7
A	9TH CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY OF PARENTERAL AND ENTERAL NUTRITION, BARCELONA, SPAIN, SEPTEMBER 13-16, 1987. CLIN NUTR (EDINB), 6 (SPEC. SUPPL.). 1987. 36., XP000577901 ABAD-LACRUZ A ET AL: "PLASMA VITAMINS A AND E IN HOSPITALIZED PATIENTS WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASE IBD" see the whole document -----	1-7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 96/00381

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.: 1, 6, 7 because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
see annex.

3. Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP96/00381

The definition of therapeutic application as "treatment of inflammatory diseases that are not caused by infection from microorganisms or by exposure to light" is not a proper definition of the intended therapeutic use because it is not fully disclosed what diseases are included and not included.

A complete search of the subject matter of claim 1 is therefore essentially impossible. The search was limited to the therapeutic applications specifically claimed and to the basic concepts underlying the application (see Guidelines, Part B, Chapter III, 3.6).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 96/00381

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A-0542632	19-05-93	FR-A- 2683722	21-05-93

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internales Aktenzeichen
PCT/EP 96/00381

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 A61K31/015 A61K31/12 A61K31/07

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprästoff (Klassifikationssystem und Klassifikationsymbole)
IPK 6 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprästoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X	<p>INFLAMMATION RESEARCH, 45 (SUPPL. 1). 1996. S5-S6., XP000577938</p> <p>BOLSMANN K ET AL: "Histamine release from mast cells and monocytes: The effects of azelastine, reproterol and vitamin A-analogues" siehe das ganze Dokument</p> <p>---</p>	1-7
X	<p>AUST N Z J OPHTHALMOL, FEB 1995, 23 (1) P3-7, AUSTRALIA, XP000577875</p> <p>FLORENCE TM: "The role of free radicals in disease." siehe das ganze Dokument</p> <p>insbesondere Zusammenfassung und Tabelle 1, Seite 4</p> <p>---</p> <p>-/-</p>	1,6,7

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *'A' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *'E' älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *'L' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die auf einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *'O' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *'P' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

*'T' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

*'X' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindenderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

*'Y' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindenderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

*& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

1

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

7. August 1996

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

22.08.96

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Mair, J

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 96/00381

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP, A, 0 542 632 (ARKOPHARMA SOCIETE ANONYME LAB) 19.Mai 1993 siehe das ganze Dokument ---	1,6,7
X	NOUV. PRESSE MED., 1981, 10/23 (1938), FRANCE, XP000578401 FRANCESCHINI PH. ET AL: "Treatment of lupus erythematosus and photosensitive dermatoses with carotenoids" siehe das ganze Dokument ---	1,6,7
X	ANN. DERMATOL. VENEREOL., 1991, 118/11 (824-825), FRANCE, XP000578412 OBERLIN P. ET AL: "Amicrobial pustulosis and systemic lupus erythematosus" siehe Seite 824, linke Spalte, Zeile 1-6 ---	1,6,7
A	Z. HAUTKR., 1990, 65/1 (17-27), GERMANY, FEDERAL REPUBLIC OF, XP000577984 LAWLOR F. ET AL: "Exploration of new therapeutic strategies in urticaria as a result of clinically orientated research" siehe Seite 25, rechte Spalte, Zeile 53 - Seite 26, linke Spalte, Zeile 29 ---	1-7
A	GASTROENTEROLOGY, 106 (4 SUPPL.). 1994. A768., XP000577983 SCHEURLEN C ET AL: "Endogenous antioxidant status in inactive Crohn's disease complicated by intestinal strictures and fistulae" siehe das ganze Dokument ---	1-7
A	9TH CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY OF PARENTERAL AND ENTERAL NUTRITION, BARCELONA, SPAIN, SEPTEMBER 13-16, 1987. CLIN NUTR (EDINB), 6 (SPEC. SUPPL.). 1987. 70., XP000577902 GONZALEZ-HUIX F ET AL: "VITAMIN STATUS IN PATIENTS WITH CROHN'S DISEASE CD" siehe das ganze Dokument ---	1-7
A	9TH CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY OF PARENTERAL AND ENTERAL NUTRITION, BARCELONA, SPAIN, SEPTEMBER 13-16, 1987. CLIN NUTR (EDINB), 6 (SPEC. SUPPL.). 1987. 36., XP000577901 ABAD-LACRUZ A ET AL: "PLASMA VITAMINS A AND E IN HOSPITALIZED PATIENTS WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASE IBD" siehe das ganze Dokument -----	1-7

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Ir - nationales Aktenzeichen

PCT/EP 96/00381

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt I auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr. _____ weil Sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich

2. Ansprüche Nr. 1, 6, 7 weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich

Siehe Anhang

3. Ansprüche Nr. _____ weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.

2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Internationale Recherchenbehörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.

3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprache Nr. _____

4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
 Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP96/00381

WEITERE ANGABEN

PCT/SA/ 210

Die Definition der therapeutischen Anwendung als "zur Behandlung von entzündlichen Erkrankungen, die nicht durch eine Infektion mit Mikroorganismen und nicht durch Licheinwirkung hervorgerufen werden" ist keine richtige Definition der beabsichtigten therapeutischen Verwendung, weil es nicht völlig bekannt wird welche Krankheiten eingeschlossen und nicht-eingeschlossen werden.
Eine vollständige Recherche nach dem Gegenstand des Anspruchs I ist daher im wesentlichen unmöglich. Die Recherche wurde auf die spezifisch beanspruchten therapeutischen Anwendungen, sowie auf den grundlegenden Gedanken der vorliegenden Anmeldung beschränkt. (Siehe Richtlinien, Teil B, Kapitel III, Paragraph 3.6).

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 96/00381

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP-A-0542632	19-05-93	FR-A- 2683722	21-05-93